

## 要 約

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏 名	一 柳 直 希
------	-------	---	-----	---------

## 主 論 文 題 名

Establishment of In Vitro FUS-Associated Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Model Using Human Induced Pluripotent Stem Cells  
(ヒト人工多能性幹細胞を用いたFUS関連家族性筋萎縮性側索硬化症モデルの確立)

## ( 内 容 の 要 旨 )

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は上位及び下位運動ニューロンが選択的に侵される神経変性疾患であり、数ヶ月から数年の単位で運動機能の廃絶へと進行する難病である。患者の約10%は家族歴を有し、*SOD1*、*FUS*等10種以上の原因遺伝子が同定されている。ALSの発症メカニズムは未だ明らかでない点が多く、臨床現場においても病態進行を遅らせる対症療法に留まっている。そこで近年、従来法では困難な疾患の病態再現、新薬創出等に活用可能な技術として、人工多能性幹 (induced pluripotent stem: iPS) 細胞が着目されている。本研究では*FUS*遺伝子上にヘテロ接合の点変異を有する家族性ALS (familial ALS: FALS) の兄弟患者2名よりiPS細胞を樹立し (FALS-iPS細胞)、健常者由来iPS細胞 (Control-iPS細胞) との比較解析を行い、iPS細胞を用いたALSモデルの確立を目指した。

iPS細胞を当研究室で開発した方法により、運動ニューロン前駆細胞 (motor neuron precursor cell: MPC) を介して運動ニューロン (motor neuron: MN) へ分化誘導した。MPCを用いたエクソンアレイの結果、FALS-iPS細胞由来MPCにおいて複数の遺伝子がスプライシング異常を起こしていることが明らかとなった。次にMNを用いてALS表現型の創出を試みた。*FUS*タンパク質の局在を観察した結果、本来核内に局在する*FUS*タンパク質が、FALS-iPS細胞由来MNでは細胞質へと漏出していた。また細胞はストレス下ではストレス顆粒 (stress granule: SG) を形成するが、通常はSGへとリクルートされない*FUS*タンパク質が、FALS-iPS細胞由来MNではSG内へ集積することが示された。また誘導したMNにグルタミン酸等を添加し細胞障害を惹起した際、FALS-iPS細胞由来MNでは有意な神経突起長の減弱と、アポトーシス陽性細胞率の増大を認めた。

またControl-iPS細胞にゲノム編集を施し、FALS-iPS細胞と同じ*FUS*点変異をホモで有する同質遺伝的なiPS細胞 (isogenic-iPS細胞) を作製した。Isogenic-iPS細胞を用いた解析の結果、MPCにおける遺伝子のスプライシング異常、またMNにおける*FUS*タンパク質の局在異常、細胞障害時の神経突起長の減弱及びアポトーシス陽性細胞率の増大等、FALS-iPS細胞と同等の表現型を示した。つまり、これらの表現型は*FUS*遺伝子変異に由来した*FUS*タンパク質の機能異常に起因することが示唆された。

以上より本研究においてALS病態を再現するモデルを確立し、今後の病態解析や新薬創出に活用可能な研究基盤を構築したと考える。